

## Micropropagação de Antúrio 'Rubi' Estiolamento e Regeneração de Brotações



***Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária  
Embrapa Agroindústria Tropical  
Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento***

**BOLETIM DE PESQUISA  
E DESENVOLVIMENTO  
185**

**Micropropagação de Antúrio ‘Rubi’  
Estiolamento e Regeneração de Brotações**

Arlene Santisteban Campos  
Priscila Bezerra dos Santos Melo  
Cândida Hermínia Campos de Magalhães Bertini  
Ana Cristina Portugal Pinto de Carvalho

Unidade responsável pelo conteúdo e edição:

**Embrapa Agroindústria Tropical**  
Rua Dra. Sara Mesquita 2270, Pici  
CEP 60511-110 Fortaleza, CE  
Fone: (85) 3391-7100  
Fax: (85) 3391-7109  
[www.embrapa.br/agroindustria-tropical](http://www.embrapa.br/agroindustria-tropical)  
[www.embrapa.br/fale-conosco](http://www.embrapa.br/fale-conosco)

Comitê Local de Publicações  
da Embrapa Agroindústria Tropical

Presidente  
*Gustavo Adolfo Saavedra Pinto*

Secretária-executiva  
*Celli Rodrigues Muniz*

Secretária-administrativa  
*Eveline de Castro Menezes*

Membros  
*Marlos Alves Bezerra, Ana Cristina Portugal  
Pinto de Carvalho, Deborah dos Santos Garruti,  
Dheyne Silva Melo, Ana Iraidy Santa Brígida,  
Eliana Sousa Ximendes*

Supervisão editorial  
*Ana Elisa Galvão Sidrim*

Revisão de texto  
*José Cesamildo Cruz Magalhães*

Normalização bibliográfica  
*Rita de Cassia Costa Cid*

Projeto gráfico da coleção  
*Carlos Eduardo Felice Barbeiro*

Editoração eletrônica  
*Ariilo Nobre de Oliveira*

Fotos da capa  
*Inflorescência do antúrio (David dos Santos Júnior;  
Material de laboratório in vitro (Arlene Santisteban  
Campos)*

**1ª edição**  
On-line (2019)

**Todos os direitos reservados.**

A reprodução não autorizada desta publicação, no todo ou em parte,  
constitui violação dos direitos autorais (Lei nº 9.610).

**Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)**  
Embrapa Agroindústria Tropical

---

Micropropagação de antúrio 'Rubi': estiolamento e regeneração de brotações/Arlene  
Santisteban Campos... [et al.]. – Fortaleza: Embrapa Agroindústria Tropical, 2019.

21 p. ; il. : 16 cm x 22 cm. – (Boletim de pesquisa e desenvolvimento / Embrapa  
Agroindústria Tropical, ISSN 1679-6543; 185).

Publicação disponibilizada on-line no formato PDF.

1. *Anthurium andraeanum*. 2. Cultura de tecidos. 3. Flores tropicais. I. Campos, Arlene  
Santisteban. II. Melo, Priscila Bezerra dos Santos. III. Bertini, Cândida Herminia Campos de  
Magalhães. IV. Carvalho, Ana Cristina Portugal Pinto de. V. Série.

CDD 635.93464

---

© Embrapa, 2019

# Sumário

---

Resumo .....4

Abstract .....5

Introdução.....6

Material e Métodos .....8

Resultados e Discussão .....10

Conclusões.....17

Agradecimentos.....17

Referências .....17

## Micropropagação de Antúrio ‘Rubi’ Estiolamento e Regeneração de Brotações

Arlene Santisteban Campos<sup>1</sup>

Priscila Bezerra dos Santos Melo<sup>2</sup>

Cândida Hermínia Campos de Magalhães Bertini<sup>3</sup>

Ana Cristina Portugal Pinto de Carvalho<sup>4</sup>

**Resumo** - Comercialmente a produção de mudas micropropagadas de *Anthurium andraeanum* ocorre pela organogênese indireta, proporcionando baixas taxas de multiplicação e variações somaclonais. Para melhorar a propagação desta espécie, objetivou-se avaliar a produção de mudas in vitro a partir de brotos estiolados de antúrio ‘Rubi’. A pesquisa foi dividida em: estiolamento e regeneração de brotos estiolados, ambas com delineamento inteiramente casualizado. No estiolamento, os tratamentos foram: meio de cultivo Pierik sem adição de auxinas; e com 10,0  $\mu\text{M}$  de AIA, AIB ou ANA, com seis repetições de cinco tubos de ensaio. Após 60 dias, foram avaliados o número de brotos, o número de nós por broto, o comprimento do broto, a distância entre os nós, o número total de nós por explante (NTN), a formação de raiz e de calos embriogênicos. Na regeneração, os tratamentos foram: meio de cultivo Pierik com adição de BAP nas concentrações de 0,00; 2,22; 4,44 ou 6,66  $\mu\text{M}$ , com cinco repetições de quatro tubos de ensaio. Após 60 dias, verificou-se o número de mudas por explante (NM) e a formação de raiz e de calos organogênicos. No estiolamento, o tratamento com adição de AIA teve o maior NTN (6,10). Na regeneração, o maior índice estimado de NM (5,15) foi com 3,33  $\mu\text{M}$  de BAP. Portanto, na produção de mudas micropropagadas de antúrio ‘Rubi’, recomenda-se a adição de 10  $\mu\text{M}$  de AIA ao meio Pierik na fase de estiolamento das brotações, e 3,33  $\mu\text{M}$  de BAP na fase de regeneração dos brotos.

**Termos para indexação:** *Anthurium andraeanum*, cultura de tecidos, flores tropicais.

<sup>1</sup> Doutoranda em Ciências do Solo, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, CE

<sup>2</sup> Doutoranda em Fitotecnia, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, CE

<sup>3</sup> Engenheira-agrônoma, doutora em Fitotecnia (Produção Vegetal), docente da Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, CE

<sup>4</sup> Bióloga, doutora em Genética, pesquisadora da Embrapa Agroindústria Tropical, Fortaleza, CE

## Anthurium 'Rubi' Micropropagation Etiolation and Shoots Regeneration

**Abstract** - Anthurium (*Anthurium andraeanum* Linden ex André) is a crop of great economic interest in Brazil. In vitro commercial plantlet production of this species occurs by indirect organogenesis. This method besides providing low multiplication rates, generates somaclonal variation. To optimize the micropropagation of this species, the objective of this work was to evaluate the in vitro yield of plantlets from etiolated shoots of anthurium 'Rubi'. The research was divided into etiolation and regeneration of etiolated shoots, both in a completely randomized design. For etiolation, the treatments: Pierik medium without addition of auxin; and with 10.0  $\mu\text{M}$  of either IAA; IBA or NAA with six replicates of five test tubes. After 60 days, the number of shoots, number of nodes per shoot, the shoot length, the distance between nodes, the total number of nodes per explant (TNN), the root and embryogenic calluses formation were evaluated. For regeneration, the treatments were: Pierik medium with BAP addition at concentrations of either 0.00; 2.22; 4.44 or 6.66  $\mu\text{M}$ , with five replicates of four test tubes. After 60 days, the number of plantlets per explant (NPE), the formation of roots and organogenic calluses were evaluated. For etiolation, the treatment with addition of IAA showed the highest TNN (6.10). For the regeneration, the highest estimated NPE (5.15) was with 3.33  $\mu\text{M}$  of BAP. Therefore, in the production of micropropagated plantlets of anthurium 'Rubi', it is recommended to add 10  $\mu\text{M}$  of IAA to the Pierik medium in the etiolation phase and 3.33  $\mu\text{M}$  BAP in the regeneration phase.

**Index terms:** *Anthurium andraeanum*, tissue culture, tropical flowers.

## Introdução

---

No Brasil, a cadeia produtiva de flores e plantas ornamentais movimentou, em 2016, o valor de R\$ 6,7 bilhões, o que representa um crescimento de 8,0% sobre o ano anterior (Ibraflor, 2017). Os antúrios são uma das principais espécies de flores tropicais de interesse econômico no mercado brasileiro (Carvalho et al., 2012).

Os antúrios pertencem à família Araceae, que compreende aproximadamente 115 gêneros (Nomura; Fuzitani; Damatto Júnior, 2012), dos quais o maior representante da família é o *Anthurium*, com mais de 1.500 espécies (Venkat et al., 2014). Apresentam preferência por ambientes sombreados (Nomura et al., 2009) e temperaturas amenas, podendo ser distribuídos em três classes principais, as quais são de grande interesse econômico: antúrios de paisagismo, de vaso e de flor (Nomura; Fuzitani; Damatto Júnior, 2012). Além disso, caracterizam-se pela boa aceitação nos mercados interno e externo devido a sua beleza natural, coloração, exotismo de suas inflorescências, elevada durabilidade e resistência ao manuseio pós-colheita, além da harmonização de suas hastes e linhas volumétricas com a arquitetura de interiores contemporâneos (Junqueira; Peetz, 2012).

Dentre as principais cultivares de antúrios de interesse econômico no Brasil, destaca-se a 'Rubi' (*Anthurium andraeanum* Linden). Esta cultivar caracteriza-se por ser uma planta de porte alto (aproximadamente um metro) que visa à produção de flor de corte, em função da qualidade da flor (formato da espata, brilho, enervação, tonalidade da coloração vermelha, posição e comprimento da haste). Possui ainda longa durabilidade pós-colheita (aproximadamente 30 dias), espata grande e vermelha e coloração da espádice branca e amarela, quando no ponto recomendado para corte (Takahashi et al., 2009).

Os antúrios apresentam propagação sexuada e assexuada (Desai; Inghalihalii; Krishnamurthy, 2015). A produção sexuada (via sementes) é um processo lento (Jahan et al., 2009) e, devido à polinização cruzada, pode aumentar a variabilidade genética, gerando plantas de tamanho, vigor, cor e produtividade desuniformes (Carvalho et al., 2012). Por outro lado, a propagação assexuada por estaquia ou por divisão de touceiras limita a quantidade de mudas e pode propiciar a disseminação de pragas e doenças

(Tombolato et al., 2004; Carvalho et al., 2011). Dessa forma, a micropropagação surge como uma alternativa que viabiliza a alta produção de mudas (Atak; Çelik, 2009; Gantait; Mandal, 2010; Martínez-Estrada et al., 2016; Saptari et al., 2017; Thokchom; Maitra, 2017). Entretanto, a propagação comercial de antúrio, via organogênese indireta por meio da indução de calos, é difícil e demorada (Thokchom; Maitra, 2017), além de possibilitar a obtenção de plantas com variação somaclonal (Carvalho et al., 2011).

Na micropropagação comercial de antúrio, entre as citocininas utilizadas na fase de multiplicação, a 6-benzilaminopurina (BAP) tem sido mencionada como a mais eficiente na regeneração de brotos no gênero *Anthurium* (Ajdarbin et al., 2015; Bejoy et al., 2008; Beyramizade, 2008; Budiarto, 2008; Cardoso; Harbermann, 2014; Duong et al., 2006; Islam et al., 2010; Jahan et al., 2009; Liendo; Mogollón, 2009; Martínez-Estrada et al., 2016; Murillo-Gómez et al., 2014; Pinheiro et al., 2009; Raad et al., 2012; Saptari et al., 2017; Thokchom; Maitra, 2017; Viégas et al., 2007). Na literatura, as concentrações testadas de BAP para a regeneração de brotos variam de 0,44  $\mu\text{M}$  (Bejoy et al., 2008) até 13,32  $\mu\text{M}$  (Budiarto, 2008; Murillo-Gómez et al., 2014).

A técnica de estiolamento pode ser utilizada como forma de melhorar a micropropagação, possibilitando a redução das variações fenotípicas. O estiolamento consiste em desenvolver brotos, caules ou partes destes em condições assépticas e na ausência de luz. O ambiente escuro possibilita que o tecido da planta fique esbranquiçado pela falta de clorofila, retardando a lignificação dos tecidos, o que facilita o enraizamento (Pinheiro et al., 2009). Além disso, há um aumento da distância entre os internódios e a suculência dos tecidos, ampliando o potencial de multiplicação do material vegetal. Tal técnica caracteriza-se ainda por evitar lesões na zona de regeneração, impedindo ou reduzindo a formação de calos (Carvalho et al., 2011).

A técnica do estiolamento compreende duas fases: a primeira fase consiste na indução ao estiolamento em segmentos nodais, e a segunda fase consiste na regeneração das brotações a partir dos brotos estiolados oriundos da primeira fase. Na primeira fase, utilizam-se auxinas, tais como AIA (ácido indolacético), AIB (ácido indolbutírico) e ANA (ácido naftalenoacético), na dose de 10  $\mu\text{M}$ , de acordo com a recomendação de Kiss et al. (1995). Esses autores propuseram um novo método de propagação rápida de abacaxizeiro com base no alongamento de brotos induzidos in vitro por meio do



estiolamento. Posteriormente, esta mesma dose de auxina foi utilizada para antúrio (Pinheiro et al., 2009; Santos, 2013; Tavares, 2016). Na segunda fase, utilizam-se citocininas, sendo BAP a mais recomendada para a regeneração dos brotos em antúrio, com as concentrações testadas de 2,22  $\mu\text{M}$  até 6,66  $\mu\text{M}$  (Pinheiro et al., 2009; Santos, 2013; Tavares, 2016).

Assim, objetivou-se com este estudo desenvolver um protocolo de regeneração *in vitro*, via brotos estiolados, a fim de melhorar a produção de mudas de antúrio 'Rubi'.

## Material e Métodos

---

O experimento foi realizado no Laboratório de Cultura de Tecidos Vegetais da Embrapa Agroindústria Tropical (CNPAT), em Fortaleza, Ceará, no período de janeiro a setembro de 2014. O trabalho foi dividido em duas fases: a primeira fase consistiu na indução ao estiolamento em segmentos nodais; e a segunda fase na regeneração das brotações a partir dos brotos estiolados oriundos da primeira fase.

### Fase de indução ao estiolamento

Mudas de antúrio 'Rubi' estabelecidas *in vitro*, com o uso da metodologia proposta por Tombolato, Quirino e Costa (1998), foram manipuladas em câmara de fluxo laminar, sendo totalmente desfolhadas e cortadas em segmentos nodais com tamanho aproximado de 1,0 cm e contendo, em média, três a quatro nós, que constituíram os explantes utilizados nessa fase.

Esses explantes foram inoculados assepticamente em câmara de fluxo laminar, na posição vertical, permanecendo por 60 dias em condições de escuro a  $25 \pm 2$  °C. Foram utilizados tubos de ensaio de dimensões 150 mm x 25 mm, contendo 10 mL de meio de cultivo Pierik (Pierik, 1976), 20 g L<sup>-1</sup> de sacarose, solidificado com Gelrite® a 1,8 g L<sup>-1</sup>, e com pH ajustado para 5,8 antes da autoclavagem, realizada a 121 °C por 15 minutos e sob 1 atm.

Foi utilizado o delineamento experimental inteiramente casualizado (DIC), composto por quatro tratamentos, com seis repetições de cinco tubos de ensaio contendo um explante (segmento nodal) cada. Os tratamentos constaram do meio de cultivo básico Pierik sem adição de regulador de crescimento (T1) e com adição de 10  $\mu\text{M}$  das auxinas AIA (ácido indolacético) (T2); AIB (ácido indolbútfico) (T3) ou ANA (ácido naftalenoacético) (T4).

Após o período de inoculação dos explantes (60 dias), foram avaliados o número de brotos estiolados por explante (NB); o número de nós por broto estiolado (NN); o comprimento do broto estiolado (CB); a distância entre os nós (DN), calculada pela razão entre o CB pelo NB; o número total de nós por explante (NTN), obtido por meio da multiplicação do NB pelo NN; a formação de raiz (FR); e a formação de calos embriogênicos (FCE).

## **Fase de regeneração das brotações**

Nessa fase do experimento, posterior à indução ao estiolamento, foram utilizados como fonte de explantes os brotos de antúrio 'Rubi' estiolados *in vitro*, cultivados no meio Pierik em condições de escuro, com adição de 10,0  $\mu\text{M}$  de AIA por 60 dias. A escolha dos brotos estiolados desenvolvidos nesse meio de cultivo foi feita em função do maior NTN neste tratamento, na fase anterior deste trabalho.

O meio de cultivo utilizado foi o Pierik, contendo 20 g  $\text{L}^{-1}$  de sacarose, solidificado com Gelrite® a 1,8 g  $\text{L}^{-1}$  e pH ajustado para 5,8 antes da autoclavagem, realizada a 121 °C, sob 1 atm por 15 minutos.

O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado, constituído por quatro tratamentos, com cinco repetições de quatro tubos de ensaio contendo um segmento nodal cada. Os tratamentos utilizados foram: meio Pierik sem adição de regulador de crescimento (T1) e com a adição do BAP nas concentrações de 2,22 (T2), 4,44 (T3) e 6,66  $\mu\text{M}$  (T4), de acordo com a metodologia proposta por Pinheiro et al. (2009).

Nessa fase, foram utilizados como explantes segmentos nodais contendo apenas um nó, obtidos a partir do seccionamento dos brotos estiolados formados na fase anterior. Cada um desses segmentos foi colocado horizontalmente em um tubo de ensaio (com dimensões de 150 mm x 25 mm) contendo 10 mL de meio de cultivo, de acordo com o tratamento. Os tubos com os segmentos nodais foram mantidos em sala de crescimento com temperatura de  $25 \pm 2^\circ\text{C}$ , fotoperíodo de 16 horas e intensidade luminosa de 30  $\mu\text{mol.m}^{-2}\text{s}^{-1}$  durante 60 dias.

Aos 60 dias da inoculação dos explantes, as culturas foram retiradas da sala de crescimento, e foi quantificado o número de mudas regeneradas por explante (NM), avaliando-se também a formação de raízes (FR) e de calos organogênicos (FCO).

Todos os dados obtidos foram submetidos à análise de variância pelo teste F ( $p < 0,05$ ), seguido da análise comparativa das médias pelo teste de Skott-Knott, utilizando-se o programa Sisvar (Ferreira, 2011). Os dados obtidos na fase de regeneração das brotações foram analisados por meio de regressão em virtude do número de concentrações envolvidas e da natureza quantitativa destas.

## Resultados e Discussão

---

### Fase de indução ao estiolamento

As características número de brotos estiolados por explante (NB), número de nós por broto estiolado (NN), comprimento do broto estiolado (CB), distância entre os nós (DN), número total de nós por explante (NTN) e porcentagem de formação de calos embriogênicos (FCE) apresentaram diferenças estatísticas em função do tipo de auxina adicionado ao meio de cultivo (Tabela 1).

O maior número de brotos estiolados por explante (NB) foi obtido no meio de cultivo adicionado de 10  $\mu\text{M}$  da auxina AIA (Tabela 1). Tanto no meio de cultivo sem a adição de auxinas quanto naqueles suplementados com AIB e ANA, verificaram-se menores quantidades de brotos estiolados.

Nos explantes de segmento nodal, o estiolamento *in vitro* ocorre somente a partir das gemas axilares presentes nos nós. Os brotos estiolados a partir dessas gemas apresentam coloração branca, indicando ausência ou reduzida atividade fotossintética dos explantes. Além disso, as folhas formadas apresentam coloração branca, sem a expansão dos limbos (Figuras 1A, 1B, 1C e 1D). No escuro, as plantas se tornam estioladas, isto é, investem energia no alongamento rápido da parte aérea, não ocorrendo expansão foliar nem formação do sistema fotossintético funcional (George et al., 2008).

A menor média do número de nós por broto estiolado ocorreu no meio de cultivo adicionado de ANA, diferindo estatisticamente das médias observadas nos demais tratamentos, as quais variaram de 1,99 a 2,34 (Tabela 1).

**Tabela 1.** Resumo da análise de variância e médias do número de brotos estiolados por explante (NB), número de nós por broto estiolado (NN), comprimento do broto estiolado (CB), distância entre os nós (DN), número total de nós por explante (NTN), porcentagem de formação de calos embriogênicos (FCE) e de raiz (FR) de antúrio 'Rubi', em função do regulador de crescimento, aos 60 dias de cultivo in vitro, no escuro.

FV	GL	Quadrado médio						
		NB	NN	CB (cm)	DN (cm)	NTN	FCE (%)	FR (%)
Tratamento	3	1,5494*	1,7976*	0,5110*	0,0154*	19,8166*	9.564,1580*	560,0436 <sup>ns</sup>
Resíduo	20	0,1763	0,1255	0,0616	0,0047	1,8362	112,2903	192,9972
Total corrigido	23	-	-	-	-	-	-	-
Tratamento		Médias						
Sem regulador	-	1,64b	1,99a	0,84a	0,38a	3,44b	0,00c	21,94a
AIA	-	2,67a	2,31a	1,05a	0,44a	6,10a	8,04c	38,03a
AIB	-	2,08b	2,34a	0,81a	0,35a	4,77a	50,34b	45,00a
ANA	-	1,56b	1,16b	0,36b	0,32a	1,86b	85,98a	35,64a
Média geral	-	1,99	1,96	0,77	0,37	4,04	36,09	35,15
CV (%)	-	21,13	18,12	32,24	18,44	33,53	29,36	39,52

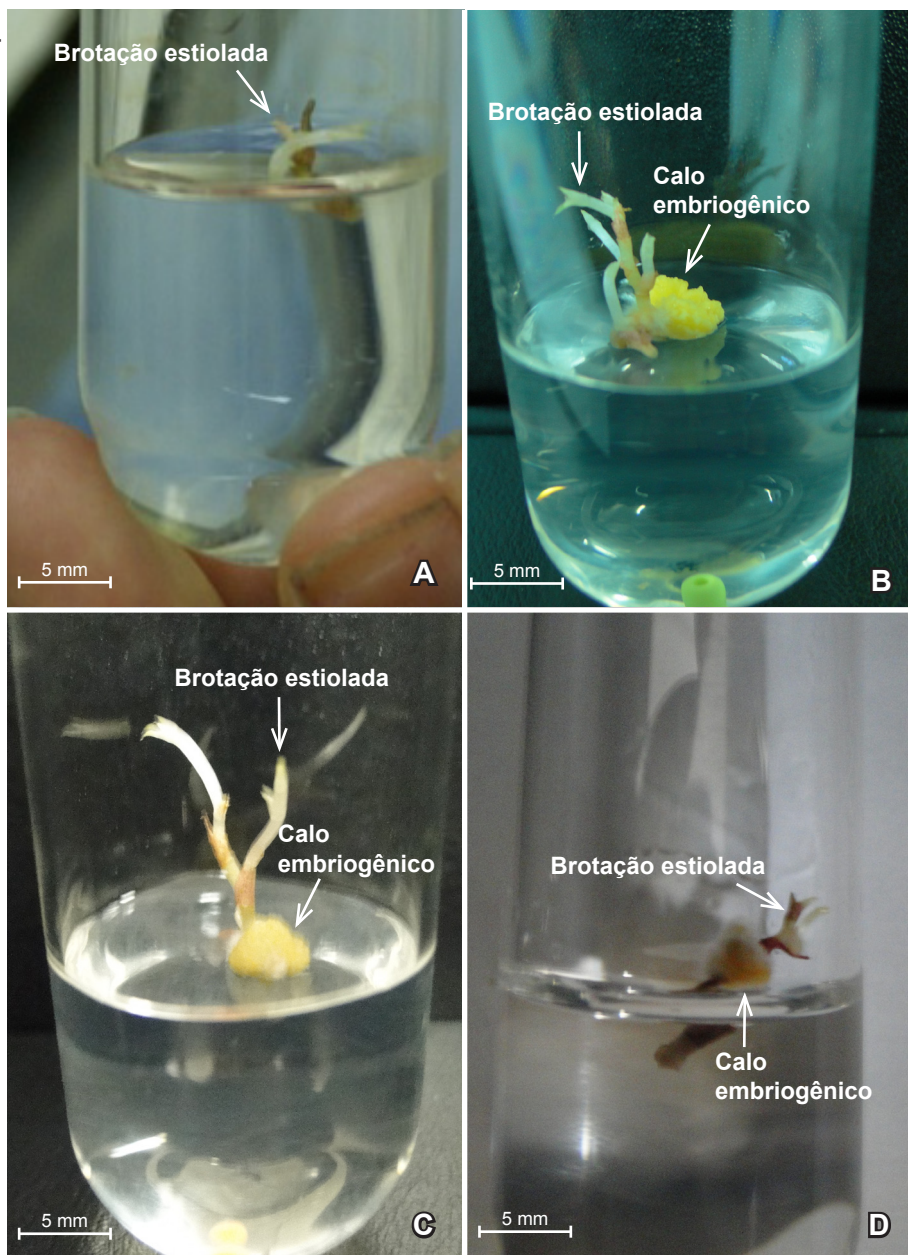
Doses de 10 µM de ácido indolacético (AIA), ácido indolbutírico (AIB) e ácido naftalenoacético (ANA).

\*5% de significância pelo teste F; ns: não significativo.

Médias com letras iguais nas colunas não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott a 5% de significância.

A característica comprimento do broto estiolado (CB), segundo Carvalho et al. (2009), está diretamente relacionada ao número de nós que serão recuperados em novas brotações quando submetidos a condições de luz. A maior média ocorreu no meio de cultivo adicionado de AIA, diferindo estatisticamente das médias constatadas no meio de cultivo contendo ANA (Tabela 1).

Para fins de micropropagação, a maior distância entre os nós (DN) facilita o desenvolvimento de gemas axilares e a manipulação in vitro de brotações regeneradas (Barboza; Caldas, 2001). A DN variou de 0,32 cm a 0,44 cm, não apresentando diferenças entre o tratamento controle e aqueles adicionados de auxinas (Tabela 1).



**Figura 1.** Brotos de antúrio 'Rubi' estiolados no meio Pierik: sem adição de regulador de crescimento (A) e com adição de 10,0 µM das auxinas: AIA (B), AIB (C) e ANA (D), aos 60 dias de cultivo in vitro no escuro.

Os maiores valores para o número total de nós por explante foram obtidos nos meios adicionados com AIA e AIB. Resultados semelhantes foram registrados para as cultivares 'Luau' (Santos, 2013) e 'lanomâmi' (Campos, 2014), em que os valores máximos também foram constatados no meio Pierik adicionado de AIA. Por outro lado, para a cultivar 'Cananeia' o maior número total de nós ocorreu nos meios acrescidos de AIB (6,57) e ANA (6,53) (Tavares, 2016).

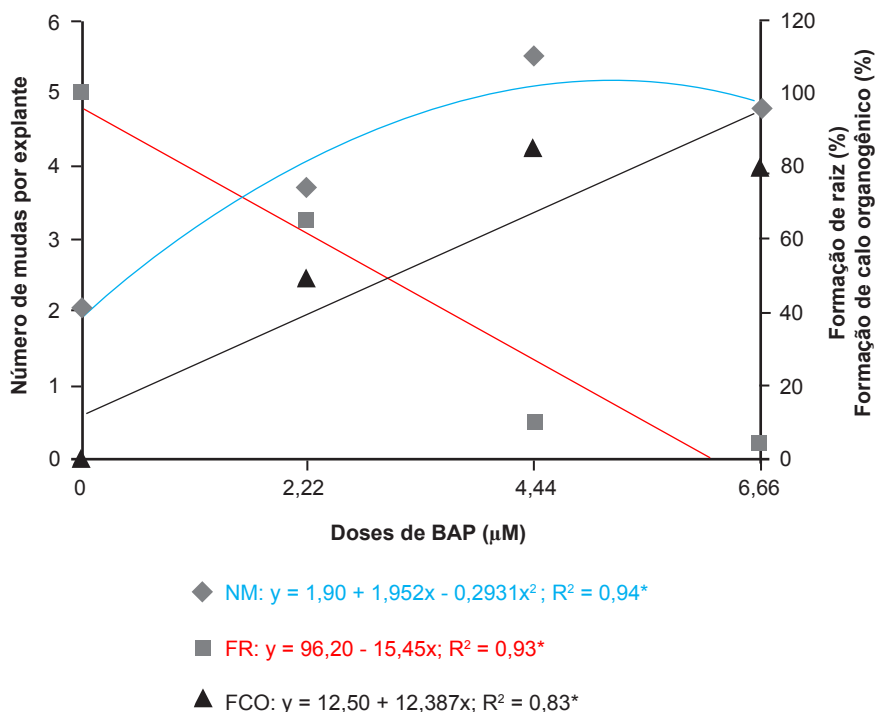
A formação de raiz (FR) é uma importante característica para o desenvolvimento da muda, principalmente na fase de aclimatização (Soares et al., 2012). Contudo, para esta característica, a porcentagem de brotos estiolados que formaram raízes, em média 35%, não diferiu em função da adição ou não e do tipo de auxina presente no meio de cultivo (Tabela 1).

De acordo com Carvalho et al. (2009), a principal variável a ser levada em consideração quando se objetiva a maior produção de mudas é o número total de nós obtido por explante (NB). Dessa forma, o meio de cultivo adicionado de 10  $\mu$ M da auxina AIA superou os demais tratamentos, sendo este o indicado para o estiolamento in vitro da cultivar 'Rubi'. O meio de cultivo com AIB também poderia ser recomendado, entretanto foi constatada alta porcentagem de formação de calos embriogênicos (50,34%), característica não desejada.

Os calos formados apresentavam coloração amarelo-clara e natureza embriogênica quanto aos aspectos histoquímicos (células coradas de vermelho na dupla coloração com carmim acético, e azul de Evans e coloração marrom no teste com lugol) constatada por Carvalho et al. (2012). As menores porcentagens de formação de calos embriogênicos (FCE) foram registradas no meio de cultivo sem a adição de fitorregulador e no meio contendo apenas AIA, 0% (Figura 1A) e 5,67% (Figura 1B), respectivamente.

## **Fase de regeneração das brotações**

Na regeneração de brotações no antúrio 'Rubi', constatou-se diferença significativa em função do aumento da concentração do regulador de crescimento BAP no meio de cultivo para as três características avaliadas: número de mudas por explante (NM), porcentagem de formação de calos organogênicos (FCO) e de raiz (FR) (Figura 2).



**Figura 2.** Análise de regressão do número de mudas regeneradas por explante (NM) e da porcentagem de formação de raiz (FR) e de calos organogênicos (FCO) de antúrio 'Rubi', em função das concentrações (0; 2,22; 4,44 e 6,66 µM) do regulador BAP adicionado ao meio de cultivo Pierik, aos 60 dias de cultivo in vitro.

Para a variável NM, foi observado que o ponto de máximo da curva de regressão foi alcançado na concentração de 3,33 µM de BAP, com médias em torno de 5,15 mudas por explante (Figura 2). Taxas de regeneração de brotações de 3,9 até 10,1 foram observadas nas cultivares 'Flamingo' (Viégas et al., 2007) e 'Tropical' (Duong et al., 2006), respectivamente, em meios de cultivo contendo 2,22 µM e 4,44 µM de BAP. Essas variações nas taxas de multiplicação ratificam o efeito do genótipo de antúrio na resposta morfogênica in vitro. O valor médio obtido para o número de brotações regeneradas por explante no meio de cultivo sem a adição da citocinina foi de 2,05, considerado baixo, corroborando os resultados obtidos por Cardoso e Habermann (2014), os quais relataram que a citocinina (BAP) é necessária para a indução de brotações em antúrio.



A redução do NM em concentrações mais altas de BAP também foi observada por Pinheiro et al. (2009) em estudos de regeneração *in vitro* de brotos estiolados da cultivar 'Eidibel'. Esses autores observaram que o BAP na concentração de 2,22  $\mu\text{M}$  proporcionou maiores taxas de formação de brotações, com uma média de 6,11. Santos (2013) também verificou maiores taxas de multiplicação para 'Jureia' (6,00) e 'Luau' (5,20) na menor concentração testada de BAP (2,22  $\mu\text{M}$ ). Já para 'Cananeia' (Tavares, 2016), os maiores valores foram alcançados nas concentrações de 4,44  $\mu\text{M}$  e 6,66  $\mu\text{M}$ , respectivamente, registrando médias de 8,52 e 10,52 mudas regeneradas por explante.

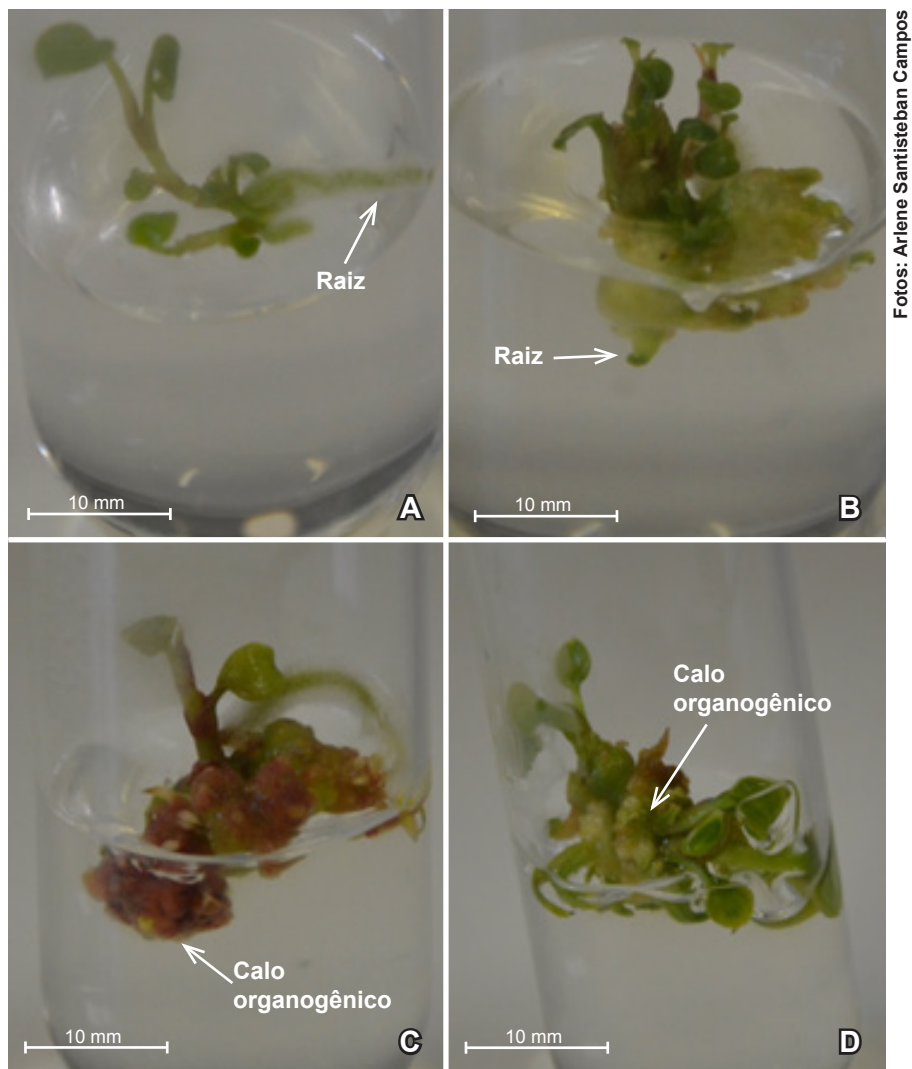
Regressão quadrática também foi observada para os dados referentes à formação de raiz (FR) na 'Rubi' (Figura 2). Nesta análise, observou-se que quanto maior a concentração de BAP, menor a FR. Assim, o meio Pierik sem adição de regulador foi o mais adequado, em que 100% das brotações regeneradas apresentaram formação de raiz. Por outro lado, em brotações formadas no meio de cultivo contendo de 6,66  $\mu\text{M}$  de BAP, o índice de formação de raiz foi de 0%. Segundo Lacerda et al. (2008), altas concentrações de citocinina geralmente inibem ou retardam a formação de raízes, afetando o crescimento radicular, além de anular os efeitos benéficos das auxinas. Tal afirmação corrobora os resultados encontrados neste estudo para a FR da 'Rubi' em função das altas concentrações de BAP.

Os calos formados na base da brotação apresentaram coloração verde, diferentemente da cor amarelo-clara característica de calos embrogênicos, sendo, portanto, de origem organogênica (FCO). Observou-se que a FCO aumentou com o acréscimo da concentração de BAP (Figura 2). Assim, no tratamento com 6,66  $\mu\text{M}$  de BAP foi constatada porcentagem média de 80% de formação de calos organogênicos, enquanto que para o tratamento sem adição de citocinina foi 0%. Segundo Soares et al. (2012), uma menor formação de calos organogênicos favorece a produção em larga escala de mudas, tendo em vista a maior estabilidade somaclonal. Contudo, o tratamento sem adição de citocinina teve o menor NM, não sendo o mais indicado para a produção em larga escala, mesmo que apresente a menor FCO dentre os tratamentos analisados.

No tratamento sem adição de BAP (Figura 3A), é possível observar a formação de raiz, a ausência de calos organogênicos e a baixa quantidade de mudas regeneradas por explante (2,05). Resultados semelhantes foram



registrados por Viégas et al. (2007) e Islam et al. (2010) para as cultivares 'Flamingo' (0,68) e 'Nitta' (0,11), respectivamente. Na ausência de reguladores de crescimento, Ajdarbin et al. (2015) constataram que os explantes apresentaram o menor número de brotos quando usaram a cultivar 'Clisto'.



**Figura 3.** Mudas de *Anthurium andraeanum* 'Rubi' regeneradas no meio Pierik: sem adição do regulador BAP (A); e com adição de 2,22 µM (B); 4,44 µM (C); e 6,66 µM (D) de BAP, aos 60 dias de cultivo in vitro.

Na concentração de 2,22  $\mu\text{M}$  de BAP (Figura 3B), é possível verificar a formação de raiz e um maior número de mudas por explante, além de baixa formação de calos organogênicos, quando comparada às concentrações de 4,44 e 6,66  $\mu\text{M}$  BAP. Também é possível observar que nas concentrações 4,44  $\mu\text{M}$  (Figura 3C) e 6,66  $\mu\text{M}$  de BAP (Figura 3D) existem uma maior formação de calos organogênicos e um número significativo de mudas por explante; contudo, a formação de raiz foi inibida.

Como relatado por Carvalho et al. (2009), a principal variável a ser levada em consideração quando se objetiva a maior produção de mudas é o NM. No presente trabalho, para a cultivar Rubi, esta característica é estimada como máxima de 5,15 na concentração estimada de 3,33  $\mu\text{M}$  de BAP. Nessa concentração de BAP, as porcentagens de FR e FCO são 35,93% e 53,75%, respectivamente, sendo consideradas aceitáveis, tendo em vista que a produção de mudas micropropagadas em larga escala, para antúrio, é feita via organogênese indireta.

## Conclusões

---

O método do estiolamento de segmentos nodais é viável para a multiplicação *in vitro* de antúrio 'Rubi'.

No estiolamento, a adição de 10  $\mu\text{M}$  de AIA ao meio de cultivo promove maior número total de nós por explante.

Para a regeneração dos brotos estiolados, a adição de 3,33  $\mu\text{M}$  de BAP ao meio de cultivo favorece o maior número de brotos regenerados por explante.

## Agradecimentos

---

Os autores agradecem ao Instituto Agrônomo (IAC) por ceder as mudas *in vitro* para a realização deste trabalho; e à Embrapa Agroindústria Tropical pela concessão das bolsas e pelo auxílio à pesquisa.

## Referências

---

AJDARBIN, M.; KAFI, M.; MIRMASOUMI, M.; AZADI, P. Indirect shoot regeneration in *Anthurium andreanum* 'Clisto' from leaf explant. **Journal of Ornamental Plants**, Tehran, v. 5, n. 3, p. 159-166, 2015.

ATAK, Ç.; ÇELİK, Ö. Micropropagation of *Anthurium andraeanum* from leaf explants. **Pakistan Journal of Botany**, Karachi, v. 43, n. 3, p. 1155-1161, 2009.

BARBOZA, S. B. S. C.; CALDAS, L. S. Estiolamento e regeneração na multiplicação *in vitro* do abacaxizeiro híbrido PE x SC-52. **Revista Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 36, n. 3, p. 417-423, 2001.

BEJOY, M.; SUMITHA, V. R.; ANISH, N. P. Foliar regeneration in *Anthurium andraeanum* Hort. Cv. Agnihothri. **BioTechnology**, Faisalabad, v. 7, n. 1, p. 134-138, 2008.

BEYRAMIZADE, E.; AZADI, P.; MII, M. Optimization of factors affecting organogenesis and somatic embryogenesis of *Anthurium andreanum* Lind. 'Tera'. **Propagation of Ornamental Plants**, Sofia, v. 8, n. 4, p. 198-203, 2008.

BUDIARTO, K. Micro propagation of several potted *Anthurium* accessions using spathe explants. **Journal Nature Indonesia**, Bali, v. 11, n. 1, p. 59-632, 2008.

CAMPOS, A. S. **Micropropagação por meio da indução ao estiolamento de antúrio (*Anthurium andraeanum*) cvs. Rubi e lanomami**. 2014. 61 f. Monografia (Graduação em Agronomia) - Centro de Ciências Agrárias, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza.

CARDOSO, J. C.; HABERMANN, G. Adventitious shoot induction from leaf segments in *Anthurium andreanum* is affected by age of explant, leaf orientation and plant growth regulator. **Horticulture, Environment and Biotechnology**, Suwon, v. 55, n. 1, p. 56-62, 2014.

CARVALHO, A. C. P. P. de; PINHEIRO, M. V. M.; MARTINS, F. B.; CRUZ, A. C. F.; OTONI, W. C. **Produção de mudas micropropagadas de Antúrio (*Anthurium andraeanum*) cv. Eidibel por embriogênese somática**. Fortaleza: Embrapa Agroindústria Tropical, 2012. 14 p. (Embrapa Agroindústria Tropical. Circular técnica, 41).

CARVALHO, A. C. P. P. de; PINHEIRO, M. V. M.; DIAS, G. de M. G.; BARROS, L. de M. **Estiolamento *in vitro*: uma alternativa para a produção de mudas micropropagadas de antúrio**. Fortaleza: Embrapa Agroindústria Tropical, 2011. 8 p. (Embrapa Agroindústria Tropical. Circular técnica, 36)

CARVALHO, A. C. P. P. de; PINHEIRO, M. V. M.; DIAS, G. de M. G.; MORAIS, J. P. S. Multiplicação *in vitro* de abacaxi ornamental por estiolamento e regeneração de brotações. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 27, n. 1, p. 103-108, 2009.

DESAI, C.; INGHALIHALLI, R.; KRISHNAMURTHY, R. Micropropagation of *Anthurium andraeanum* - An important tool in floriculture. **Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry**, New Delhi, v. 4, n. 3, p. 112-117, 2015.

DUONG, T. N.; NGUYEN, D.; NGUYEN N. H. V.; CHAU, D. K.; DINH, V. K.; DO, N. V. Impact of *Anthurium* spp. genotype on callus induction derived from leaf explants, and shoot and root regeneration capacity from callus. **Journal of Applied Horticulture**, Lucknow, v. 8, n. 2, p. 135-137, 2006.

FERREIRA D. F. Sisvar: a computer statistical analysis system. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 35, n. 6, p. 1039-1042, 2011.

GANTAIT, S.; MANDAL, N. Tissue culture of *Anthurium andreaeanum*: a significant review and future prospective. **International Journal of Botany**, Faisalabad, Pakistan, v. 6, n. 3, p. 207-219, 2010.

GEORGE, E. F.; HALL, M. A.; KLERK, G. D. **Plant propagation by tissue culture**. Dordrecht: Springer, 2008. 501 p.

IBRAFLOR. Instituto Brasileiro de Floricultura. **O mercado de flores no Brasil**. 2017. Disponível em: <<http://www.ibraflor.com/site/wp-content/uploads/2017/11/release-imprensa-ibraflor-10-2017.pdf>>. Acesso em: 23 maio 2018.

ISLAM, S. A.; DEWAN, M. M. R.; MUKUL, M. H. R.; HOSSENI, M. A.; KHATUN, F. *In vitro* regeneration of *Anthurium andreaeanum* cv. Nitta. **Bangladesh Journal of Agricultural Research**, Gazipur, v. 35, n. 2, p. 217-226, 2010.

JAHAN, M. T.; ISLAM, M. R.; KHAN, R.; MAMUN, A. N. K.; AHMED, G.; HAKIM. L. *In vitro* clonal propagation of anthurium (*Anthurium andreaeanum* L.) using callus culture. **Plant Tissue Culture & Biotechnology**, Dhaka, v. 19, n. 1, p. 61-69, 2009.

JUNQUEIRA, A. H.; PEETZ, M. S. Comercialização de antúrios no Brasil: aspectos relevantes dos mercados interno e externo. In: CASTRO, A. C. R. et al. **Antúrio**. Brasília, DF: Embrapa, 2012. Cap. 10, p. 147-163.

KISS, E.; KISS, J.; GYULAI, G.; HESZKY, L. E. A novel method for rapid micropropagation of pineapple. **HortScience**, Alexandria, v. 30, n.1, p.127-129, 1995.

LACERDA, G. A.; CHALFUN-JÚNIOR, A.; PAIVA, L. V.; MELO, E. F.; OLIVEIRA, A. C. S. de; REZENDE, J. C. de. Influência de reguladores de crescimento no desenvolvimento radicular de sementes de *Coffea arabica* L. 'Rubi' *in vitro*. **Coffee Science**, Lavras, v. 3, n. 1, p. 81-84, 2008.

LIENDO, M.; MONGOLLÓN, N. Multiplicación clonal *in vitro* del antúrio (*Anthurium andreaeanum* Lind. Cv. Nicoya). **Bioagro**, Barquisimeto, v. 21, n. 3, p. 179-182, 2009.

MARTÍNEZ-ESTRADA, E.; CAAMAL-VELÁZQUEZ, J. H.; MORALES-RAMOS, V.; BELLO-BELLO, J. J. Light emitting diodes improve *in vitro* shoot multiplication And growth of *Anthurium andreaeanum* Lind. **Propagation of Ornamental Plants**, Sofia, v. 16, n. 1, p. 3-8, 2016.

MURILLO-GÓMEZ, P. A.; NARANJO, E.; CALLEJAS, R.; ATEHORTÚA, L.; URREA, A. Micropropagation of the native species *Anthurium antioquiense* Engl. for conservation purposes. **Agronomía Colombiana**, Bogotá, v. 32, n. 3, p. 334-340, 2014.

NOMURA, E. S.; FUZITANI, E. J.; DAMATTO JÚNIOR, E. R. Cultivo do antúrio. **Pesquisa e Tecnologia**, São Paulo, v. 9, n. 9, 2012.

NOMURA, E. S.; LIMA, J. D.; DOMINGOS, S. R.; GARCIA, V. A.; FUZITANI, E. J.; SILVA, H. M. da. Crescimento e produção de antúrio cultivado sob diferentes malhas de sombreamento. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 39, n. 5, p.1394-1400, 2009.

PIERIK, R. L. M. *Anthurium andraeanum* Lind. plantlets produced from callus tissues cultivated *in vitro*. **Physiologia Plantarum**, Copenhagen, v. 37, n. 1, p. 80-82, 1976.

PINHEIRO, M. V. M.; DIAS, G. de M. G.; CARVALHO, A. C. P. P. de; BARROS, L. de M. Micropropagação de antúrio 'IAC Eidibel' por meio da indução ao estiolamento e regeneração de plantas. **Revista Brasileira de Horticultura Ornamental**, Campinas, v. 15, n. 2, p. 133-142, 2009.

RAAD, M. K.; ZANJANIL, S. B.; SHOOR, M.; HAMIDOGHLI, Y.; SAYYAD, A. R.; KHARABIAN-MASOULEH, A.; KAVIANI, B. Callus induction and organogenesis capacity from lamina and petiole explants of *Anthurium andreanum* Linden (Casino and Antadra). **Australian Journal of Crop Science**, Brisbane, v. 6, n. 5, p. 928-937, 2012.

SANTOS, P. B. dos. **Micropropagação de duas cultivares de antúrio por meio da indução ao estiolamento**. 2013. 58 f. Monografia (Graduação em Agronomia) - Centro de Ciências Agrárias, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza.

SAPTARI, R. T.; SINTA, M.; BUDIANI, A. *In vitro* propagation of *Anthurium adreanum* cv. Nitta through organogenesis. **AGRIVITA Journal of Agricultural Science**, East Java, v. 39, n. 2, p. 192-200, 2017.

SOARES, W. S.; RÉGO, M. M.; RÉGO, E. R.; BARROSO, P. A.; NASCIMENTO, K. S.; FERREIRA, K. T. Estabelecimento *in vitro* e micropropagação de maracujá silvestre (*Passiflora foetida* L.). **Revista Brasileira de Plantas Medicinais**, Botucatu, v. 14, n. especial, p. 138-142, 2012.

TAKAHASHI, L. S. A.; FARIA, R. T.; TOMBOLATO, A. F. C.; CUQUEL, F. L.; GROSSI, M. L. Desenvolvimento de cultivares de antúrio IAC como plantas de vaso no Norte do Paraná. **Bragantia**, Campinas, v. 68, n. 3, p.593-600, 2009.

TAVARES, V. P. C. **Indução de brotos de antúrio 'Cananeia' por meio de estiolamento *in vitro***. 2016. 52 f. Monografia (Graduação em Agronomia) - Centro de Ciências Agrárias, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza.

THOKCHOM, R.; MAITRA, S. Micropopagation of *Anthurium andraeanum* cv. Jewel from leaf explants **Journal of Crop and Weed**, Mohanpur, v. 13, n. 1, p. 23-27, 2017.

TOMBOLATO, A. F. C.; FURLANI, P. R.; CASTRO, C. E. F.; MATHES, L. A. F.; TAGLIACCOZZO, G. M. D.; SAES, L. A.; RIVAS, E. B.; COUTINHO, L. N.; BERGAMANN, E. C.; LEME, J. M. Antúrio: *Anthurium andraeanum* Lindl. In: TOMBOLATO, A. F. C. (Ed.). **Cultivo comercial de plantas ornamentais**. Campinas: Instituto Agronômico, 2004. p. 61-94.

TOMBOLATO, A. F. C.; QUIRINO, E. A.; COSTA, A. M. M. Antúrio (*Anthurium andraeanum* Lind.). In: TOMBOLATO, A. F. C.; COSTA, A. M. M. **Micropropagação de plantas ornamentais**. Campinas: Instituto Agronômico, p. 18-21, 1998. (Instituto Agronômico. Boletim Técnico 174.)

VENKAT, S. K.; BOMMISETTY, P.; PADMAKAR, B.; PATIL, M. S.; REDDY, L.; CHENNAREDDY, A. The genetic linkage maps of *Anthurium* species based on RAPD, ISSR and SRAP markers. **Scientia Horticulturae**, Amsterdam, v.178, p. 132-137, 2014.

VIÉGAS, J.; ROCHA, M. T.; FERREIRA-MOURA, I.; ROSA, D.; SOUZA, J. A.; CORRÊA, M. G. S.; SILVA, J. A. T. *Anthurium andraeanum* (Lindenex André) culture: *in vitro* and *ex vitro*. **Floriculture and Ornamental Biotechnology**, Isleworth, v. 1, n. 1, p. 61-65, 2007.



---

*Agroindústria Tropical*



MINISTÉRIO DA  
AGRICULTURA, PECUÁRIA  
E ABASTECIMENTO



PÁTRIA AMADA  
**BRASIL**  
GOVERNO FEDERAL